

引用:李明,李琦,罗佳晶,张佳诺,李睿,吴圣贤.脑心安胶囊调节AMPK/GSK-3β/Nrf2信号通路对缺血性中风大鼠的神经保护作用[J].中医药导报,2026,32(1):77-81,97.

脑心安胶囊调节AMPK/GSK-3β/Nrf2信号通路对缺血性中风大鼠的神经保护作用*

李明,李琦,罗佳晶,张佳诺,李睿,吴圣贤
(北京中医药大学东直门医院,北京 100700)

[摘要] 目的:基于腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)/糖原合成酶激酶3β(GSK-3β)/核因子E2相关因子2(Nrf2)信号通路探讨脑心安胶囊对缺血性中风大鼠的神经保护作用机制。方法:采用线栓法建立缺血性中风大鼠模型,将大鼠分为假手术组(Sham组,不插入栓线)、模型组(M组)、脑心安胶囊组(脑心安组,0.72 g/kg)、AMPK激活剂(AICAR)组(100 mmol/L)、脑心安(0.72 g/kg)+AMPK抑制剂[Compound C(CC),20 μmol/L]组。对神经功能损伤进行评分;TTC染色检测脑梗死体积;微量法检测超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)水平;TUNEL染色检测脑组织细胞凋亡;免疫组化法检测巢蛋白(Nestin)、神经生长因子(NGF)蛋白表达;蛋白质印迹(Western blotting)法检测AMPK/GSK-3β/Nrf2信号通路相关蛋白表达。结果:与Sham组比较,M组大鼠神经功能损伤评分、脑梗死体积、脑组织MDA水平、细胞凋亡率、Nestin及NGF蛋白表达明显上升,SOD、GSH-Px活性及p-AMPK、p-GSK-3β、Nrf2表达水平明显下降($P<0.05$);与M组比较,AICAR组、脑心安组神经功能损伤评分、脑梗死体积、脑组织MDA水平、细胞凋亡率明显下降,SOD、GSH-Px活性及Nestin、NGF、p-AMPK、p-GSK-3β、Nrf2蛋白表达明显上升($P<0.05$);与脑心安组比较,脑心安+CC组神经功能损伤评分、脑梗死体积、脑组织MDA水平、细胞凋亡率明显上升,SOD、GSH-Px活性及Nestin、NGF、p-AMPK、p-GSK-3β、Nrf2蛋白表达明显下降($P<0.05$)。结论:脑心安胶囊可以抑制缺血性中风大鼠的氧化应激,减少脑组织细胞凋亡,发挥神经保护作用,其机制可能与激活AMPK/GSK-3β/Nrf2信号通路有关。

[关键词] 缺血性中风;脑心安胶囊;腺苷酸活化蛋白激酶/糖原合成酶激酶3β/核因子E2相关因子2信号通路;神经保护;大鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2026)01-0077-05

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2026.01.012

Neuroprotective Effect of Naoxin'an Capsule (脑心安胶囊) on Ischemic Stroke Rats via Regulating the AMPK/GSK-3β /Nrf2 Signaling Pathway

LI Ming, LI Qi, LUO Jiajing, ZHANG Jianuo, LI Rui, WU Shengxian

(Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

[Abstract] Objective: To investigate the neuroprotective mechanism of Naoxin'an capsule in rats with ischemic stroke based on the AMP-activated protein kinase (AMPK)/glycogen synthase kinase-3β (GSK-3β)/nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) signaling pathway. Methods: A rat model of ischemic stroke was established by the filament occlusion method. The rats were divided into the sham-operated group (no filament insertion), model group, Naoxin'an capsule group (0.72 g/kg), AMPK activator (AICAR) group (100 mmol/L), and Naoxin'an (0.72 g/kg) + AMPK inhibitor [Compound C (CC), 20 μmol/L] group. Neurological deficit scores were assessed. Cerebral infarction volume was measured by TTC staining. The levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), and malondialdehyde (MDA) were detected using a microplate assay. Apoptosis in brain tissue was detected by TUNEL staining. The protein expression of nestin and nerve growth factor (NGF) was detected by immunohistochemistry. The protein expression related to the AMPK/GSK-3β/Nrf2 signaling pathway was detected by Western blotting. Results: Compared with the sham-operated group, the

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(82174340)

model group showed significantly increased neurological deficit scores, cerebral infarction volume, MDA levels, apoptosis rate, and expression of nestin and NGF protein, while the activities of SOD and GSH-Px and the expression levels of p-AMPK, p-GSK-3 β , and Nrf2 were significantly decreased in sham-operated group ($P<0.05$). Compared with the model group, the AICAR group and Naoxin'an group showed significantly decreased neurological deficit scores, cerebral infarction volume, MDA levels, and apoptosis rate, while the activities of SOD and GSH-Px and the expression levels of nestin, NGF, p-AMPK, p-GSK-3 β , and Nrf2 were significantly increased in AICAR group and Naoxin'an group ($P<0.05$). Compared with the Naoxin'an group, the Naoxin'an+CC group showed significantly increased neurological deficit scores, cerebral infarction volume, MDA levels, and apoptosis rate, while the activities of SOD and GSH-Px and the expression levels of nestin, NGF, p-AMPK, p-GSK-3 β , and Nrf2 were significantly decreased in Naoxin'an+CC group ($P<0.05$). Conclusion: Naoxin'an capsule can inhibit oxidative stress, reduce apoptosis in brain tissue, and exert neuroprotective effects in rats with ischemic stroke, the mechanism of which may be related to the activation of the AMPK/GSK-3 β /Nrf2 signaling pathway.

[Keywords] ischemic stroke; Naoxin'an capsule; AMP-activated protein kinase/glycogen synthase kinase-3 β /nuclear factor erythroid 2-related factor 2 signaling pathway; neuroprotection; rat

缺血性中风是常见的急性脑血管疾病,其特征是血栓形成或栓塞导致的脑部血液循环障碍,引起脑组织损伤,导致神经功能损伤^[1]。缺血性中风和脑梗死会引起不同程度的脑损伤,包括脑组织病变和神经元损伤,其中神经元细胞死亡是神经元损伤的直接原因,并且缺血引起的血管阻塞会产生大量活性氧,引起氧化应激,而氧化应激则会加剧神经元损伤并导致严重的神经元功能障碍^[2]。在缺血性中风中,氧化应激和神经元凋亡是其主要病理机制,因此抑制氧化应激和神经元凋亡是治疗缺血性中风的主要策略^[3]。腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)/核因子E2相关因子2(Nrf2)信号通路在缺血性中风中发挥重要作用,有研究发现帕尔马汀激活该通路表达可以减轻氧化应激和神经元凋亡,发挥神经保护作用^[4]。脑心安胶囊由黄芪、党参、三七等19味中药组成,是一款成熟的已纳入临床的中成药,具有益气活血、开窍通络功效,临幊上用于治疗气虚血瘀、中风偏瘫等病证^[5]。有研究发现脑心安胶囊对于慢性脑缺血导致的脑组织氧化损伤和线粒体功能障碍具有改善作用^[6]。但是关于脑心安在缺血性中风重的神经功能损伤机制研究尚少。本研究建立缺血性中风大鼠模型,探讨其调节AMPK/糖原合成酶激酶3 β (GSK-3 β)/Nrf2信号通路对缺血性中风大鼠的神经保护作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物 6~7周龄的SPF级SD大鼠,体质量180~200 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0008,动物质量合格证号:110011200107365024。所有大鼠饲养于本院动物实验中心[动物使用许可证号:SYXK(京)2020-0013],国家标准饲料喂养,温度20~24℃,相对湿度50%~60%,光照周期12/12 h。适应性喂养1周,检查无异常后用于后续实验。本实验已通过北京中医药大学东直门医院伦理委员会审批(批准号:2021-00926)。

1.2 主要试剂与仪器 脑心安胶囊(批号:20200309,国药准字Z20123066,规格:每粒装0.3 g)购自吉林意达药业有限公司;TTC染色液(2%)(批号:20200905)、超氧化物歧化酶(SOD)(批号:20190308)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)(批号:20190607)、

丙二醛(MDA)(批号:20201106)试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司;TUNEL染色试剂盒(批号:20200618)购自上海碧云天生物技术有限公司;巢蛋白(Nestin)(批号:20190816)、神经生长因子(NGF)(批号:20190304)、Nrf2(批号:20201210)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)(批号:20201013)抗体购自美国Abcam公司;p-AMPK(批号:20201006)、AMPK(批号:20190908)、p-GSK-3 β (批号:20200105)、GSK-3 β (批号:20190505)抗体购自西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司。DM-125光学显微镜购自日本奥林巴斯公司;Varioskan LUX多功能酶标仪购自赛默飞世尔科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 造模及分组 采用线栓法建立缺血性中风大鼠模型,麻醉大鼠,分离左侧颈总、颈内和颈外动脉,对颈外动脉、颈总动脉进行结扎,夹闭颈内动脉。将栓线从颈总动脉插入,再调整角度插入至颈内动脉,栓线插入有阻力感时,结扎,固定栓线,2 h后拔出部分栓线模拟再灌注^[7]。大鼠出现右侧前肢向胸前屈曲,行走时向右侧转圈或行走时倾倒则造模成功。将大鼠分为假手术组(Sham组,不插入栓线)、模型组(M组)、脑心安胶囊组(脑心安组,0.72 g/kg)^[5]、AMPK激活剂组(AICAR组,100 mmol/L)^[8]、脑心安(0.72 g/kg)+AMPK抑制剂(Compound C,CC,20 μ mol/L)组^[9],每组20只大鼠。造模2周后开始给药,脑心安组灌胃给予0.72 g/kg的脑心安,AICAR组经左侧脑室注射100 mmol/L的AICAR,脑心安+CC组灌胃给予脑心安,同时经左侧脑室注射20 μ mol/L CC溶液,Sham组和M组在相同部位给予等体积生理盐水,大鼠按照1 mL/100 g体积进行灌胃,左侧脑室按照10 μ L/100 g体积进行注射。连续给药2周。

1.3.2 神经功能损伤评分和脑梗死体积测定 采用Ludmila Belayev 12分评分法进行神经功能损伤评分^[10],评分越高表明神经功能损伤程度越高。采用TTC染色计算脑梗死体积。评分结束后,随机取5只大鼠,麻醉断头取脑,置于-20℃冰箱冷冻20 min后,从额极开始冠状面切片(2 mm)。将切片放入2%的TTC染色液中避光孵育15 min,染色后置于4%多聚甲醛中固定过夜,取出切片后拍照,正常组织为暗红色,梗死区域为苍白

色。梗死体积百分比(%)=梗死体积/对侧大脑半球体积×100%。

1.3.3 脑组织氧化应激指标检测 随机取5只大鼠,麻醉断头取脑,将海马组织匀浆离心,收集上清,使用微量法试剂盒检测SOD、GSH-Px、MDA水平。

1.3.4 TUNEL染色检测海马组织细胞凋亡率 取“1.3.2”剩余的冰冻的海马组织,制备冰冻切片,根据TUNEL试剂盒说明书进行染色操作,光学显微镜下观察,凋亡细胞染色为棕黄色。

1.3.5 免疫组化法检测海马组织Nestin、NGF蛋白表达 随机取5只大鼠,麻醉断头取脑,制备石蜡切片,脱蜡至水化,抗原修复、封闭后,加入Nestin(1:500)、NGF(1:500)抗体,4℃过夜,加入二抗(1:500),室温孵育30 min,DAB显色,苏木素复染,光学显微镜下观察并拍照,根据染色阳性区域,计算Nestin、NGF蛋白阳性表达量。

1.3.6 Western blotting检测AMPK/GSK-3β/Nrf2信号通路蛋白表达 取剩余5只大鼠,麻醉断头取脑,将海马组织匀浆,加入裂解液提取总蛋白,离心后收集上清液,BCA法测定蛋白浓度,取适量蛋白上样、电泳、湿法转膜、脱脂牛奶封闭,加入p-AMPK(1:1 000)、AMPK(1:1 000)、p-GSK-3β(1:1 000)、GSK-3β(1:1 000)、Nrf2(1:1 000),以GAPDH(1:1 000)为内参,4℃过夜,洗膜加入二抗,37℃孵育2 h,加入ECL显影,以目的蛋白条带灰度值与内参条带灰度值比值为蛋白相对表达量。

1.4 统计学方法 采用SPSS 26.0进行数据分析,计量资料用“均数±标准差”($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两间比较采用SNK-q检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 脑心安胶囊对大鼠神经功能损伤评分的影响 与Sham组比较,M组大鼠神经功能损伤评分明显上升($P<0.05$);与M组比较,AICAR组、脑心安组大鼠神经功能损伤评分明显下降($P<0.05$),AICAR组、脑心安组大鼠神经功能损伤评分差异无统计学意义($P>0.05$);与脑心安组比较,脑心安+CC组大鼠神经功能损伤评分明显上升($P<0.05$)。(见表1)

表1 各组大鼠神经功能损伤评分 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | 神经功能损伤评分/分 |
|---------|----|-------------------------|
| Sham组 | 20 | 0.00±0.00 |
| M组 | 20 | 11.50±0.53 ^a |
| AICAR组 | 20 | 6.00±0.28 ^b |
| 脑心安组 | 20 | 5.80±0.23 ^b |
| 脑心安+CC组 | 20 | 9.30±0.46 ^c |
| F | | 3 038.955 |
| P | | 0.000 |

注:与Sham组比较,^a $P<0.05$;与M组比较,^b $P<0.05$;与脑心安组比较,^c $P<0.05$ 。

2.2 脑心安胶囊对大鼠脑梗死体积的影响 与Sham组比较,

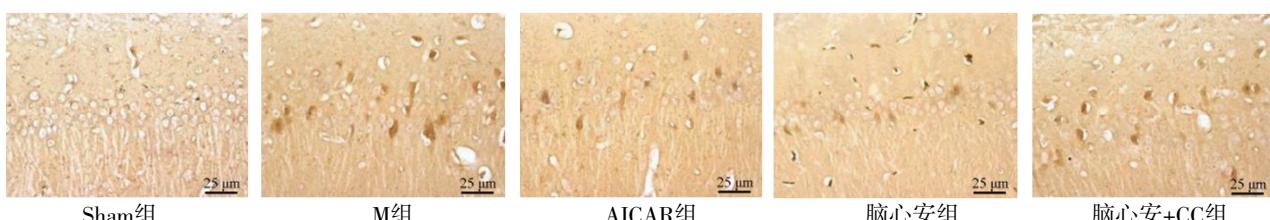


图1 各组大鼠脑梗死

M组大鼠脑梗死体积明显上升($P<0.05$);与M组比较,AICAR组、脑心安组大鼠脑梗死体积明显下降($P<0.05$),AICAR组、脑心安组大鼠脑梗死体积差异无统计学意义($P>0.05$);与脑心安组比较,脑心安+CC组大鼠脑梗死体积明显上升($P<0.05$)。(见图1、表2)

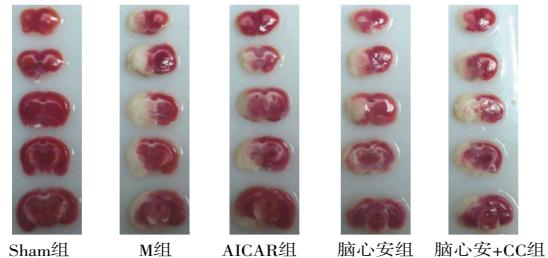


图2 TUNEL染色检测海马组织细胞凋亡

表2 各组大鼠脑梗死体积比较 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | 脑梗死体积百分比/% |
|---------|---|-------------------------|
| Sham组 | 5 | 0.00±0.00 |
| M组 | 5 | 28.41±3.42 ^a |
| AICAR组 | 5 | 16.02±2.78 ^b |
| 脑心安组 | 5 | 17.80±2.05 ^b |
| 脑心安+CC组 | 5 | 23.22±3.76 ^c |
| F | | 76.036 |
| P | | 0.000 |

注:与Sham组比较,^a $P<0.05$;与M组比较,^b $P<0.05$;与脑心安组比较,^c $P<0.05$ 。

2.3 脑心安胶囊对大鼠海马组织氧化应激的影响 与Sham组比较,M组大鼠海马组织SOD、GSH-Px活性明显下降,MDA含量明显上升($P<0.05$);与M组比较,AICAR组、脑心安组大鼠海马组织SOD、GSH-Px活性明显上升,MDA含量明显下降($P<0.05$),AICAR组、脑心安组大鼠海马组织SOD、GSH-Px、MDA水平差异无统计学意义($P>0.05$);与脑心安组比较,脑心安+CC组大鼠SOD、GSH-Px活性明显下降,MDA含量明显上升($P<0.05$)。(见表3)

表3 各组大鼠海马组织氧化应激水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

| 分组 | n | SOD(UL) | GSH-Px/(μg/mg) | MDA/(nmol/mg) |
|---------|---|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Sham组 | 5 | 312.04±32.54 | 141.36±17.25 | 35.41±5.26 |
| M组 | 5 | 201.74±41.57 ^a | 54.25±11.14 ^a | 172.25±11.47 ^a |
| AICAR组 | 5 | 272.48±36.47 ^b | 92.41±8.44 ^b | 102.52±9.14 ^b |
| 脑心安组 | 5 | 266.57±28.54 ^b | 90.25±9.25 ^b | 96.28±8.74 ^b |
| 脑心安+CC组 | 5 | 225.14±23.76 ^c | 71.03±8.76 ^c | 144.36±10.02 ^c |
| F | | 8.437 | 40.842 | 161.829 |
| P | | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

注:与Sham组比较,^a $P<0.05$;与M组比较,^b $P<0.05$;与脑心安组比较,^c $P<0.05$ 。

2.4 脑心安胶囊对大鼠海马组织细胞凋亡的影响 与Sham组比较, M组大鼠海马组织细胞凋亡率明显上升($P<0.05$);与M组比较,AICAR组、脑心安组大鼠海马组织细胞凋亡率明显下降($P<0.05$), AICAR组、脑心安组大鼠海马组织细胞凋亡率差异无统计学意义($P>0.05$);与脑心安组比较,脑心安+CC组大鼠海马组织细胞凋亡率明显上升($P<0.05$)。(见图2、表4)

表4 大鼠海马组织细胞凋亡率比较 ($\bar{x}\pm s$)

| 分组 | n | 细胞凋亡率/% |
|---------|---|-------------------------|
| Sham组 | 5 | 3.42±0.20 |
| M组 | 5 | 33.14±4.23 ^a |
| AICAR组 | 5 | 18.24±2.74 ^b |
| 脑心安组 | 5 | 19.35±2.81 ^b |
| 脑心安+CC组 | 5 | 25.21±3.01 ^c |
| F | | 70.486 |
| P | | 0.000 |

注:与Sham组比较,^a $P<0.05$;与M组比较,^b $P<0.05$;与脑心安组比较,^c $P<0.05$ 。

2.5 脑心安胶囊对大鼠海马组织Nestin、NGF蛋白表达的影响 与Sham组比较, M组大鼠海马组织Nestin、NGF蛋白表达明显上升($P<0.05$);与M组比较,AICAR组、脑心安组大鼠海马组织Nestin、NGF蛋白表达明显上升($P<0.05$), AICAR组、脑心安组大鼠海马组织Nestin、NGF蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$);与脑心安组比较,脑心安+CC组大鼠海马组织Nestin、NGF蛋白表达明显下降($P<0.05$)。(见图3、表5)

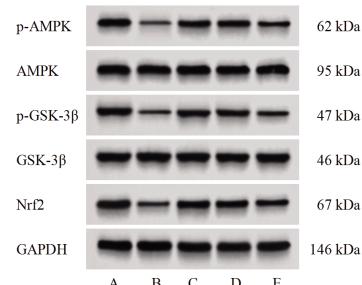
表5 大鼠海马组织Nestin、NGF蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$)

| 分组 | n | Nestin | NGF |
|---------|---|-------------------------|-------------------------|
| Sham组 | 5 | 10.23±1.25 | 11.25±2.07 |
| M组 | 5 | 33.14±2.74 ^a | 45.25±3.72 ^a |
| AICAR组 | 5 | 45.21±3.21 ^b | 55.12±3.01 ^b |
| 脑心安组 | 5 | 43.36±2.85 ^b | 53.17±4.11 ^b |
| 脑心安+CC组 | 5 | 28.10±3.14 ^c | 37.21±3.29 ^c |
| F | | 132.842 | 143.805 |
| P | | 0.000 | 0.000 |

注:与Sham组比较,^a $P<0.05$;与M组比较,^b $P<0.05$;与脑心安组比较,^c $P<0.05$ 。

2.6 脑心安胶囊对大鼠海马组织AMPK/GSK-3β/Nrf2信号通路蛋白表达的影响 与Sham组比较, M组大鼠海马组织p-AMPK、p-GSK-3β、Nrf2蛋白表达明显下降($P<0.05$);与M组比较,

AICAR组、脑心安组大鼠海马组织p-AMPK、p-GSK-3β、Nrf2蛋白表达明显上升($P<0.05$), AICAR组、脑心安组大鼠海马组织p-AMPK、p-GSK-3β、Nrf2蛋白表达差异无统计学意义($P>0.05$);与脑心安组比较,脑心安+CC组大鼠海马组织p-AMPK、p-GSK-3β、Nrf2蛋白表达明显下降($P<0.05$)。(见图4、表6)



注: A: Sham组; B: M组; C: AICAR组; D: 脑心安组; E: 脑心安+CC组。

图4 大鼠海马组织p-AMPK、AMPK、p-GSK-3β、GSK-3β、Nrf2蛋白条带

表6 大鼠海马组织AMPK/GSK-3β/Nrf2信号通路蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$)

| 分组 | n | p-AMPK/AMPK | p-GSK-3β/GSK-3β | Nrf2/GAPDH |
|---------|---|------------------------|------------------------|------------------------|
| Sham组 | 5 | 0.85±0.12 | 0.88±0.10 | 1.05±0.08 |
| M组 | 5 | 0.23±0.04 ^a | 0.33±0.05 ^a | 0.34±0.04 ^a |
| AICAR组 | 5 | 0.59±0.05 ^b | 0.75±0.08 ^b | 0.70±0.07 ^b |
| 脑心安组 | 5 | 0.63±0.06 ^b | 0.72±0.07 ^b | 0.68±0.05 ^b |
| 脑心安+CC组 | 5 | 0.35±0.05 ^c | 0.41±0.05 ^c | 0.48±0.06 ^c |
| F | | 60.569 | 52.918 | 94.868 |
| P | | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

注:与Sham组比较,^a $P<0.05$;与M组比较,^b $P<0.05$;与脑心安组比较,^c $P<0.05$ 。

3 讨 论

缺血性中风由遗传、表观遗传和环境因素间的复杂相互作用引起,近几十年在急性脑中风治疗方面取得了重大进展,但是其相关发病率和死亡率仍然是重要的公共卫生问题^[11]。脑缺血疾病的分子机制复杂,氧化还原稳态破坏和由此产生的氧化应激是脑血管疾病的重要机制,主要引起内皮功能障碍、炎性细胞聚集,导致动脉阻塞和脑缺血性损伤^[12]。目前静脉溶栓联合重组组织型纤溶酶原激活剂(rt-PA)和血管内血栓切除术是目前急性缺血性脑卒中的标准治疗选择,但是在

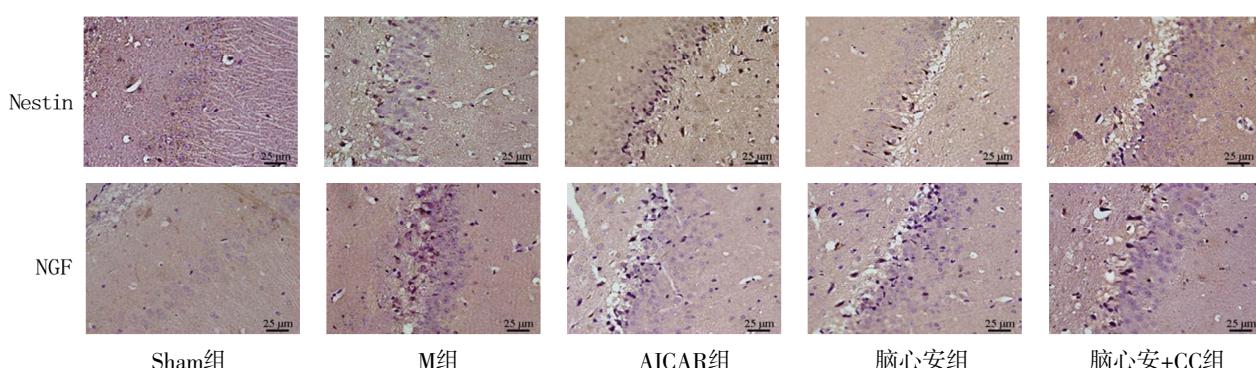


图3 海马组织Nestin、NGF表达 (免疫组化染色, $\times 400$)

缺血再灌注过程中神经功能可能尚未恢复,引起神经元肿胀,并且加重脑梗死^[13]。有研究^[6]表明脑心安胶囊可以明显改善缺血再灌注损伤。在本研究中采用线栓法建立缺血性中风大鼠模型,脑梗死体积明显增大,神经功能损伤评分明显升高,提示造模成功,而经过脑心安胶囊治疗后,明显降低了神经功能损伤评分,减少了脑梗死体积。

在缺血性中风中,脑血流中断会耗尽大脑中的氧气和葡萄糖,从而导致脑神经病理变化,最终引发神经功能障碍^[14]。缺血性中风是一个复杂的病理生理过程,涉及炎症和氧化应激级联反应,其中炎症细胞活化后产生活性氧和活性氮,这些物质又反过来激活炎症细胞,破坏血脑屏障,引起脑损伤^[15]。在本研究中,模型大鼠出现明显的氧化应激反应,氧化还原平衡被破坏,经过脑心安胶囊治疗后,氧化应激明显改善。氧化应激与神经细胞应激反应是中枢神经系统病理生理学的关键组成部分,神经元对氧化应激高度敏感,在缺血性脑组织中,神经元凋亡是其重要病理过程^[16]。本研究中,模型大鼠海马组织出现大量细胞凋亡,经过脑心安胶囊治疗后,细胞凋亡明显减少,提示脑心安胶囊可能通过抑制氧化应激减少海马组织细胞凋亡。

许多研究表明,神经营养因子包括NGF、脑源性神经营养因子(BDNF)和神经营养素-3(NT-3),调节神经元生长和存活的作用参与梗死组织的修复,对于缺血性脑损伤后的神经元存活具有重要意义^[17]。Nestin(卵蛋白)在缺血区域高表达,是新神经元的标志物,可以防止梗死区域扩大,有助于神经功能恢复。因此检测Nestin和NGF水平有助于评估缺血性神经功能损伤和治疗程度^[18]。在本研究中,模型大鼠Nestin和NGF蛋白表达明显上升,经过脑心安胶囊治疗后,进一步促进其表达,有助于神经功能的恢复。

氧化应激被认为是缺血性脑卒中所致脑损伤的关键致病机制,抑制ROS的产生或诱导抗氧化蛋白的表达可能有助于抑制缺血性中风诱导的氧化损伤,在所有抗氧化蛋白中Nrf2发挥着至关重要的作用,它诱导500多个涉及抗氧化基因的基因表达和Ⅱ期(共轭)解毒反应,保护大脑免受缺血再灌注诱导的损伤,激活AMPK/Nrf2通路可以通过其抗炎和抗氧化作用防止缺血性中风^[19]。在AMPK/GSK-3β/Nrf2信号通路中,通过激活AMPK和GSK-3β蛋白的磷酸化表达,促进Nrf2核易位,可以抑制缺血再灌注损伤,抑制氧化应激和炎症,减少细胞凋亡^[20]。在本研究中,模型大鼠缺血后抑制了AMPK和GSK-3β蛋白的磷酸化表达和Nrf2表达,经过脑心安胶囊治疗后,激活该通路表达,抑制了氧化应激和脑组织细胞凋亡,对神经功能发挥保护作用。笔者通过设置AMPK激活剂组发现,脑心安胶囊发挥了和AMPK激活剂相对水平的治疗效果,通过设置脑心安+AMPK抑制剂组发现,AMPK抑制剂明显逆转了脑心安胶囊对缺血性中风大鼠的神经保护作用。

综上所述,脑心安胶囊抑制氧化应激引起的脑损伤和脑组织细胞凋亡,对缺血性中风大鼠的神经功能具有保护作用,与激活AMPK/GSK-3β/Nrf2信号通路有关。在缺血性中风中中枢炎症损伤也是其重要病理过程,脑心安胶囊是否可以改善脑组织炎症来保护大鼠神经有待进一步研究。

参考文献

- [1] FARINA M, VIEIRA L E, BUTTARI B, et al. The Nrf2 pathway in ischemic stroke: A review[J]. Molecules, 2021, 26(16):5001.
- [2] ZHAO Y F, ZHANG X J, CHEN X Y, et al. Neuronal injuries in cerebral infarction and ischemic stroke: From mechanisms to treatment (Review)[J]. Int J Mol Med, 2022, 49(2):15-24.
- [3] PAWLUK H, KOŁODZIEJSKA R, GRZEŚK G, et al. Increased oxidative stress markers in acute ischemic stroke patients treated with thrombolytics[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(24):15625.
- [4] TANG C L, HONG J M, HU C Y, et al. Palmatine protects against cerebral ischemia/reperfusion injury by activation of the AMPK/Nrf2 pathway[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021(1):6660193-6660205.
- [5] 韩广卉,李东岳,余虹霓,等.脑心安胶囊对慢性脑缺血致血管性认知障碍大鼠胶质细胞激活及炎性反应的调节作用[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(19):46-55.
- [6] 冯宇娟,王乐,韩广卉,等.脑心安胶囊激活CREB/PGC-1 α 改善慢性脑缺血致VCI大鼠线粒体及氧化损伤的作用机制[J].中国实验方剂学杂志,2022,28(23):19-29.
- [7] 张婷婷,滕尧,陆雪健,等.芪蛭胶囊对缺血性中风大鼠PKC-MARCKS信号通路相关蛋白表达的影响[J].中华中医药杂志,2021,36(1):402-406.
- [8] 安吉洋,周丽丽,庞宏刚,等.AMPK信号通路在蛛网膜下腔出血后自噬激活中的作用及机制[J].中华神经医学杂志,2015,14(11):1095-1099.
- [9] 张雷,袁伟琼,孔祥丽,等.远隔缺血预适应通过AMPK/PGC-1 α 信号通路促进线粒体生物合成保护脑缺血再灌注损伤大鼠[J].国际脑血管病杂志,2022,30(6):426-432.
- [10] 倪广晓,段春巧,周宏斌,等.和血生络方对缺血性卒中大鼠神经功能的影响及其作用机制研究[J].时珍国医国药,2022,33(2):300-305.
- [11] 詹敏,孙林娟,刘建勋.从气血立论辨析补阳还五汤治疗缺血性中风的药理机制[J].中医药导报,2023,29(8):99-104.
- [12] POLONIKOV A, BOCHAROVA I, AZAROVA I, et al. The impact of genetic polymorphisms in glutamate-cysteine ligase, a key enzyme of glutathione biosynthesis, on ischemic stroke risk and brain infarct size[J]. Life (Basel), 2022, 12(4):602.
- [13] QIN C, YANG S, CHU Y H, et al. Signaling pathways involved in ischemic stroke: Molecular mechanisms and therapeutic interventions[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1):215-244.
- [14] 仲思潼,曹馨元,梁吉,等.功能磁共振成像技术诠释针刺治疗缺血性中风机制的进展[J].磁共振成像,2024,15(11):174-179.

(下转第97页)

- [14] ESTRADA C M, GHISAYS V, NGUYEN E T, et al. Estrogen signaling in the medial amygdala decreases emotional stress responses and obesity in ovariectomized rats[J]. *Horm Behav*, 2018, 98:33–44.
- [15] REIS F M C V, PESTANA-OLIVEIRA N, LEITE C M, et al. Hormonal changes and increased anxiety-like behavior in a perimenopause-animal model induced by 4-vinylcyclohexene diepoxide (VCD) in female rats[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2014, 49:130–140.
- [16] 朱晓旭.酸枣仁汤抗焦虑作用的实验研究[D].北京:北京中医药大学,2002.
- [17] 王守勇.酸枣仁汤组分配伍的抗焦虑作用及机理[D].北京:北京中医药大学,2003.
- [18] RAMZAN I M, LEVY G. Kinetics of drug action in disease states. XIV. Effect of infusion rate on pentylenetetrazol concentrations in serum, brain and cerebrospinal fluid of rats at onset of convulsions[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1985, 234(3):624–628.
- [19] 孙洪昊,任小巧.基于数据挖掘的藏医治疗隆病的用药规律探索与分析[J].中医药导报,2022,28(12):143–147, 164.
- [20] LYDIARD R B. The role of GABA in anxiety disorders[J]. *J Clin Psychiatry*, 2003, 64(Suppl 3):21–27.
- [21] NEMEROFF C B. The role of GABA in the pathophysiology and treatment of anxiety disorders[J]. *Psychopharmacol Bull*, 2003, 37(4):133–146.
- [22] ZHONG H Q, RONG J, YANG Y, et al. Neonatal inflammation via persistent TGF- β 1 downregulation decreases GABA(a)R expression in basolateral amygdala leading to the imbalance of the local excitation-inhibition circuits and anxiety-like phenotype in adult mice[J]. *Neurobiol Dis*, 2022, 169:105745.
- [23] ZHANG D D, LI H J, ZHANG H R, et al. Poria cocos water-soluble polysaccharide modulates anxiety-like behavior induced by sleep deprivation by regulating the gut dysbiosis, metabolic disorders and TNF- α /NF- κ B signaling pathway[J]. *Food Funct*, 2022, 13(12):6648–6664.
- [24] ZHOU B Q, JIN G, PANG X Q, et al. Lactobacillus rhamnosus GG colonization in early life regulates gut-brain axis and relieves anxiety-like behavior in adulthood[J]. *Pharmacol Res*, 2022, 177:106090.
- [25] SUWALUK A, CHUTABHAKDIKUL N. Altered development of prefrontal GABAergic functions and anxiety-like behavior in adolescent offspring induced by prenatal stress[J]. *Brain Sci*, 2022, 12(8):1015.
- [26] LI S H, GRAHAM B M. Why are women so vulnerable to anxiety, trauma-related and stress-related disorders. The potential role of sex hormones[J]. *Lancet Psychiatry*, 2017, 4(1):73–82.
- [27] 宋桂霞,王华琪,杨俊,等.5-羟色胺再摄取抑制剂联合电针对围绝经期焦虑抑郁障碍的疗效[J].宁夏医科大学学报,2022,44(12):1240–1244.
- [28] 欧治菲.针药结合治疗脾虚痰湿型PCOS高雄激素血症的临床观察[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2022.
- [29] 陈诺筠.五子逍遥散联合针刺治疗多囊卵巢综合征合并抑郁焦虑状态的临床观察[D].福州:福建中医药大学, 2023.
- [30] 蔡金星.醒神调焦针刺法治疗多囊卵巢综合征伴随焦虑抑郁状态的临床疗效观察[D].南京:南京中医药大学, 2024.

(收稿日期:2025-03-21 编辑:时格格)

(上接第81页)

- [15] LIU X, XIAO X, HAN X, et al. A new therapeutic trend: Natural medicine for ameliorating ischemic stroke via PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Molecules*, 2022, 27(22):7963.
- [16] OYEFESO F A, MUOTRI A R, WILSON C G, et al. Brain organoids: A promising model to assess oxidative stress-induced central nervous system damage[J]. *Dev Neurobiol*, 2021, 81(5):653–670.
- [17] ASGARI TAEI A, DARGAHI L, KHODABAKHSH P, et al. Hippocampal neuroprotection mediated by secretome of human mesenchymal stem cells against experimental stroke[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2022, 28(9):1425–1438.
- [18] MOSTAJERAN M, EDVINSSON L, AHNSTEDT H, et al.

Repair-related molecular changes during recovery phase of ischemic stroke in female rats[J]. *BMC Neurosci*, 2022, 23(1):23–35.

- [19] DUAN J L, CUI J, YANG Z F, et al. Neuroprotective effect of Apelin 13 on ischemic stroke by activating AMPK/GSK-3 β /Nrf2 signaling[J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1):24–40.
- [20] LIU H X, WU X, LUO J N, et al. Adiponectin peptide alleviates oxidative stress and NLRP3 inflammasome activation after cerebral ischemia-reperfusion injury by regulating AMPK/GSK-3 β [J]. *Exp Neurol*, 2020, 329(1):113302.

(收稿日期:2024-06-19 编辑:李海洋)